

(19) 日本国特許庁 (J P)

## (12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平5-60724

(43) 公開日 平成5年(1993)3月12日

(51) Int.Cl. <sup>5</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 1 N 27/333		7235-2 J	G 0 1 N 27/30	3 3 1 A
		7235-2 J		3 3 1 C

審査請求 未請求 請求項の数4(全12頁)

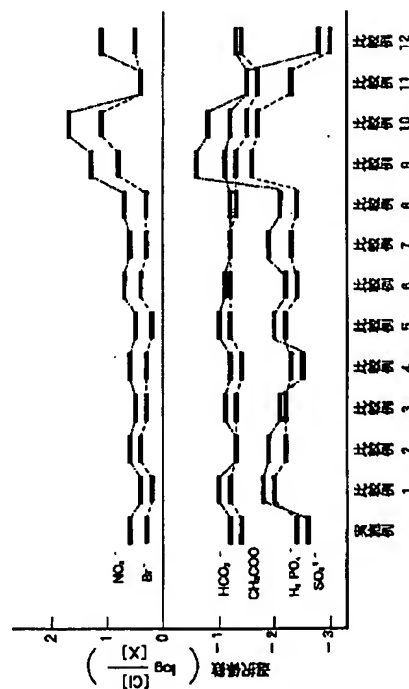
(21) 出願番号	特願平3-246549	(71) 出願人	000146445 株式会社常光 東京都文京区本郷3-19-4
(22) 出願日	平成3年(1991)9月2日	(72) 発明者	秋山 英時 神奈川県川崎市高津区宇奈根731-1 株 式会社常光東京技術研究所内
		(74) 代理人	弁理士 山田 文雄 (外1名)

(54) 【発明の名称】 塩化物イオン選択性電極用応答膜

## (57) 【要約】

【目的】 直線性、応答性、イオン選択性を犠牲にすることなく、機械的強度に優れ、タンパク等の生体物質の付着にも汚れにも強い塩化物イオン選択性電極用応答膜を提供することを目的とする。

【構成】 塩化物イオン選択性感応物質を、ポリチオール系エポキシ樹脂とポリアミド系エポキシ樹脂との混合物からなる支持体に保持させた。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 塩化物イオン選択性感応物質を、ポリチオール系エポキシ樹脂とポリアミド系エポキシ樹脂との混合物からなる支持体に保持させたことを特徴とする塩化物イオン選択性電極用応答膜。

【請求項2】 前記塩化物イオン選択性感応物質が、

a) 1分子当たり複数の窒素原子を有する環状4級アンモニウム塩と、

b) 環状4級アンモニウム陽イオンと高分子重合体陰イオンとのイオン会合体との混合物であることを特徴とする請求項1記載の塩化物イオン選択性電極用応答膜。

【請求項3】 前記環状4級アンモニウム塩が、1, 1, 4-ジステアリルピシクロ[2, 2, 2]オクター1, 1, 4-ジアンモニウムクロライドであることを特徴とする請求項2記載の塩化物イオン選択性電極用応答膜。

【請求項4】 前記イオン会合体が、(8S, 9R)-ベンジルシンコジニウム陽イオンとポリスチレンスルホン酸陰イオンとのイオン会合体であることを特徴とする請求項2記載の塩化物イオン選択性電極用応答膜。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、塩化物イオン選択性感応物質を高分子物質からなる支持体に保持させたプラスチック膜型の塩化物イオン選択性電極用応答膜に関するものである。

【0002】

【技術的背景】溶液中の塩化物イオン( $\text{Cl}^-$ )の分析に使用する塩化物イオン選択性電極用応答膜としては、以下のものが知られている。

(a) 塩化銀を主体とした固体成形膜によって応答膜を形成したもの(固体膜型の応答膜)

このタイプの応答膜は堅牢で機械的強度があり、また直線応答性に優れている。しかし試料溶液中に臭素やヨウ素等の他のハロゲンイオン、あるいは、イオウイオン、シアンイオン、チオシアン酸イオンなどが共存していると、応答膜表面が非可逆的化学変化を受け、その結果電位が安定しなくなる。また種々の生体試料に含まれるタンパク等によっても悪影響を受け、これらの試料では電位が安定しないという欠点がある。

【0003】(b) 感応物質を適当な有機溶媒に溶かし、これをセラミック等の多孔質の支持体に保持させたもの(いわゆる液膜型の応答膜)

感応物質としてメチルトリカブリンアンモニウムイオン等の4級アンモニウム塩が、溶媒としては1-デカノールなどが用いられている。このタイプの応答膜は、(a)のタイプのものと異なり、ハロゲンイオン等による非可逆的化学変化を受ける塩化銀を感応物質として使用していない。感応物質である4級アンモニウム塩は、これら妨害イオンによって電位測定時に多少の悪影響は受けるものの、これら妨害イオンがなくなれば本来の電位応答

能力を回復する。またタンパク等の影響を受けにくいことから(a)の固体膜型タイプよりも有用であるといわれている。しかしながら、このタイプの応答膜は感応物質を含む有機層が応答膜から絶えず流出するため寿命が短い。有機層の補充により繰り返し使用することもできるが、有機層の入れ換え作業が難しくトラブルが発生しやすい。また応答の直線範囲が $10^{-1}\text{MCl}^- \sim 10^{-4}\text{MCl}^-$ 程度で感度が悪く、さらに機械的強度がなく振動に弱いという欠点がある。

【0004】(c) 感応物質を適当な有機溶媒に溶かし、これを塩化ビニル樹脂等の高分子重合体の支持体に保持させたもの(いわゆる高分子液膜型の応答膜)

感応物質としてはテトラセチルアンモニウムクロライド等の4級アンモニウム塩が、溶媒としては1-テトラデシルアルコール、o-ニトロフェニルエーテルなどが用いられる(特開昭64-23151)。このタイプの応答膜は、(b)の液膜型応答膜の改良型であって、多孔質支持体の代わりに高分子支持体で感応物質を含む有機層を保持することによって、感応物質の流出を少なくしたものである。特に可塑剤としてフタル酸n-ジオクチル等のエステルを添加すると、感応物質を含んだ有機層の流出は殆どなくなる。しかしながら、このタイプの応答膜は(b)の液膜型応答膜と同様、直線応答性の範囲が狭い。また重炭酸イオンや酢酸イオン等のいわゆる親水性妨害イオンに対する選択性が劣るという難点がある。特に可塑剤としてフタル酸n-ジオクチルを用いた場合には、臭化物イオンや硝酸イオン等のいわゆる親油性妨害イオンに対する選択性も悪化する。また種々の生体試料の測定では、タンパク等の影響を受け電位が安定しない欠点がある。

【0005】(d) 4級アンモニウム陽イオンに代表される感応物質と高分子重合体陰イオンからなるイオン会合体を支持体とし(陽イオン>陰イオン)、さらに感応物質である4級アンモニウム陽イオンに含まれるアルキル鎖を配向させたもの(いわゆる分子配向膜型の応答膜)(特開昭63-265154)

感応物質としてはジメチルジステアリルアンモニウムイオン等の $\text{R}_4\text{N}^+$ 型で、2つのR基が他の2つのR基よりも長いアルキル鎖を有する4級アンモニウム塩が、また陰イオン性高分子重合体にはポリスチレンスルホン酸イオンが用いられる。このタイプの応答膜は(おそらく応答膜の表面が堅いため)タンパク等の影響を受けにくく、直線性、応答性にも優れている。しかし、生体試料の多くに含まれている重炭酸イオンによる妨害を受けやすく選択性に難がある。また機械的強度も低いという欠点がある。

【0006】(e) 感応物質をジベンジルソルビトールでゲル化し、これをポリアミド系エポキシ樹脂に内蔵させて固化したもの(いわゆる高分子固体膜型の応答膜)

このタイプの応答膜は機械的強度が大きく取扱いが簡便

であり、直線応答範囲も  $1 \text{ MCl}^- \sim 10^{-5} \text{ MCl}^-$  と広い。しかし応答速度が極端に遅く  $1 \text{ MCl}^- \sim 10^{-5} \text{ MCl}^-$  に変化させた時、応答に60分もかかってしまう。

【0007】(f) (e)の感応物質の支持体をポリアミド系エポキシ樹脂と塩化ビニル樹脂の混合物に代えた応答膜(特公平2-40184)

感応物質としてはトリドデシルメチルアンモニウムクロライド等の  $\text{R}_4\text{NCl}$  (4級アンモニウム塩のクロライド型)が、また溶媒(塩化ビニル樹脂の可塑剤)としてはフタル酸  $n$ -ジオクチル等のフタル酸エステルが用いられる。エポキシ樹脂としてはビスフェノールタイプのもものが、またエポキシ樹脂硬化剤としてはアミンタイプのもものが用いられている。このタイプの応答膜は、(e)の応答膜の改良型であって、比較的堅牢であり、直線応答範囲も  $10^{-1} \text{ MCl}^- \sim 10^{-4} \text{ MCl}^-$  と優れている。しかし(e)の応答膜より改良されたとはいえ、まだ応答速度が遅く、 $10^{-1} \text{ MCl}^- \sim 10^{-5} \text{ M}$ に変化させた時、応答に約15分もかかる。またヨウ化物イオンなどのハロゲンイオン及びや硝酸イオン等によって妨害を受けやすい。

【0008】(g)感応物質を、融点が室温以上でかつ分子内に水酸基を少なくとも1つ有する化合物に融かし込んだもの(いわゆる無支持体型の応答膜)(特願平1-342943、同2-245177)

感応物質としてはエチルトリドデシルトルアンモニウムクロライドや1-ヒドロキシエチルトリドデシルアンモニウムクロライド等の4級アンモニウム塩が、また感応物質の賦形材として1-テトラデカノールまたはコレステロールなどが用いられる。このタイプの応答膜は、直線応答性の範囲が  $10^{-1} \text{ MCl}^- \sim 10^{-4} \text{ MCl}^-$  と優れ、また臭化物イオンや硝酸イオン等(いわゆる親油性妨害イオン)や重炭酸イオンや酢酸イオン等(親水性妨害イオン)の影響を受け難く、イオン選択性の点で優れている。しかし有機化合物そのものを賦形材としているため、機械的強度は小さい。また賦形材の骨格が親油性であるため、タンパクや脂質成分等の影響を受けやすいという欠点がある。

【0009】以上のように従来の塩化物イオン選択性電極はそれぞれ一長一短であった。即ち、直線性(測定可能濃度範囲)、応答性(感度)、イオン選択性等を重視したものは機械的強度に優れず、一方、機械的強度を確保するため樹脂を支持体として用いたものでは、感度やイオン選択性の点で難があった。

【0010】

【発明の目的】本発明はこのような事情に鑑みなされた\*

(親油性)  $\text{ClO}_4^- > \text{SCN}^- > \text{I}^- > \text{NO}_3^- > \text{N}_3^- > \text{NO}_2^- > \text{Cl}^- > \text{HCO}_3^- >$

$\text{CH}_3\text{COO}^- = \text{SO}_4^{2-} > \text{F}^- > \text{HPO}_4^{2-}$  (親水性)

【0013】従って、このような親油性大の感応物質を用いた場合には、塩化物イオン( $\text{Cl}^-$ )よりも親油性の夾雑イオンに多く感応することになり、測定の妨害となる。一方、親水性イオンによる妨害は少ない。この親油

\*ものであり、直線性、応答性、イオン選択性を犠牲にすることなく、機械的強度に優れ、タンパク等の生体物質の付着にも、汚れにも強い塩化物イオン選択性電極用応答膜を提供することを目的とする。

【0011】

【発明の構成】このような本発明の目的は、塩化物イオン選択性感応物質を、ポリチオール系エポキシ樹脂とポリアミド系エポキシ樹脂との混合物からなる支持体に保持させたことを特徴とする塩化物イオン選択性電極用応答膜、により達成された。すなわち、本発明は、塩化物イオン選択性感応物質を保持する支持体の化学環境に着目して、親水性の比較的高いポリチオール系エポキシ樹脂と、親油性の比較的高いポリアミド系エポキシ樹脂とを組み合わせ支持体としたものである。これによって感応物質の親水性、親油性だけでなく、支持体の親水性、親油性を制御することが可能となり、その結果樹脂の支持体を用いた場合にでも、優れたイオン選択性、直線性、応答性の確保を可能にしたものである。またエポキシ樹脂自体は機械的強度に優れ堅牢であるから、例えばタンパクなどが付着しても、容易に拭き取ることができる。感応物質が流出することもないからその寿命も長いものとなる。また、感応物質として、a)1分子当たり複数の窒素原子を有する環状4級アンモニウム塩と、b)環状4級アンモニウム陽イオンと高分子重合体陰イオンとのイオン会合体、との混合物を使用することにより、より優れたイオン選択性を達成することができる。

【0012】

【発明の構成の詳細な説明】支持体に使用するエポキシ樹脂は、主剤としてビスフェノールタイプのもを用い、その硬化剤としてチオールタイプのもを用いたポリチオール系エポキシ樹脂と、同じくビスフェノールタイプの主剤にアミンタイプの硬化剤を用いたポリアミド系エポキシ樹脂との混合物を使用する。これらのエポキシ樹脂は、2液型エポキシ系接着剤を使用してもよい。ポリチオール系エポキシ樹脂は塩化ビニル樹脂に比べると親水性がかなり高く、一方ポリアミド系エポキシ樹脂はそれよりは親油性が高い。イオン選択性電極用応答膜のイオン選択性は、その中に含有される感応物質に依存するのは勿論だが、その他の電極応答膜内の構成成分(具体的には各種溶媒、強度を増す目的で添加されるガラス繊維、さらに支持体など)の性質にも影響される。その影響の目安となるのが、対象物質の親水性あるいは親油性の程度である。例えば感応物質(イオン交換体)が親油性の性質をもっていれば、下記ホフマイスター系列の左側にある陰イオンに対してより強く応答し、右側にある陰イオンに対する応答は弱くなる。

5

性感応物質をやはり親油性の支持体に保持すれば、そのように作製された電極用応答膜では、もともとの感応物質の性質が増長されるであろうし、また支持体の親油性が感応物質のそれと同程度であれば、できた応答膜の性質は元の感応物質のそれと同程度となろう。逆に親水性支持体を用いれば、その支持体の親水性の度合いに従って、電極の性質も親油性イオンに妨害されにくくなる一方、親水性イオンには妨害されやすい方向に移っていくことになる。

【0014】一般に生体試料液には、塩化物イオン ( $\text{Cl}^-$ ) よりも親油性大であるイオン ( $\text{ClO}_4^-$ ,  $\text{SCN}^-$ ,  $\text{I}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$  等) よりも、親水性が大である  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$  イオン等の量のはるかに多いことから、これら親水性イオンに対する選択性が重要視されている。しかし、親油性イオン (特に  $\text{Br}^-$ ) は薬物のカウンターイオンとして使用されることが多いので、薬物を投与されたまたは服用している患者の血清、血液中の塩化物イオン濃度測定では、これら親油性イオンに対する選択性 (排除性) も要求される。結局これら親水性イオンと親油性イオンの双方の妨害を排除することが要求される。本発明は、イオン選択性を制御するため、支持体を含めた化学環境を制御することにより、これら親水性イオンと親油性イオンの双方の妨害を排除することが可能にしたものである。また親水性、親油性の異なる2つのエポキシ樹脂を用いるものであるから、感応物質の性質 (親水性、親油性の程度) に応じて、その混合比を適宜代えることにより、好ましいイオン選択性を確保することができる。

【0015】本発明における塩化物イオン選択性感応物質としては、従来より感応物質として広く用いられている4級アンモニウム塩のイオン交換体を使用することができる。4級アンモニウム塩のアルキル基が長鎖なもののほど親油性が大となり、親水性イオンを排除する。すなわち親水性妨害イオンに対するイオン選択性は高くなる。一方、アルキル基が短鎖になれば、親水性が大となるので親油性イオンに対するイオン性が高くなる。従って、本発明で使用される感応物質は、支持体を使用したポリチオール系及びポリアミド系エポキシ樹脂による化学環境に応じて適宜のものを選ぶ。本発明ではより好ましい感応物質として、a) 1分子当たり複数の窒素原子を有する環状4級アンモニウム塩と、b) 環状4級アンモニウム陽イオンと高分子重合体陰イオンとのイオン会合体、との混合物を使用することができる。

【0016】4級アンモニウム塩中で、マイナス荷電の陰イオンを引きつけるのは、窒素原子上のプラス荷電で

6

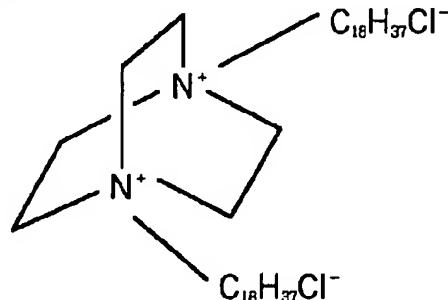
ある。従って、感応物質1分子当たり電荷を多く持つもののほど陰イオンを強く引き寄せることが出来、感度が上昇する (静電効果)。この観点から、本発明では、1分子当たり複数の窒素原子を有する環状4級アンモニウム塩を感応物質の一つとして使用する。

【0017】一方、このような電荷の多い感応物質は、塩化物イオンだけでなく、他の陰イオンも強く引きつけることになるから、他の陰イオン (すなわち妨害イオン) を排除する必要がある。妨害イオンの排除は、前記したようにアンモニウム塩のアリキル鎖の長さを調整して、その親油性、親水性を調節することにより対処できる。また長鎖アルキル基を有するものであれば、その長鎖が立体障害がとなって、 $\text{SO}_4^{2-}$  のような大きな陰イオンの接近を妨げ、これら大きな妨害イオンに寄る電位応答は弱くなると思われる。本発明では、このような立体障害の観点から、環状4級アンモニウム陽イオンと高分子重合体陰イオンとのイオン会合体を併せて使用している。

【0018】1分子当たり複数の窒素原子を有する環状4級アンモニウム塩としては、たとえば、下記構造式に示す1, 14-ジステアリルピシクロ [2, 2, 2] オクター-1, 14-ジアンモニウムクロライド (以下、DSBODA $^{2+} \cdot 2\text{Cl}^-$  と略記する) がある。

【0019】

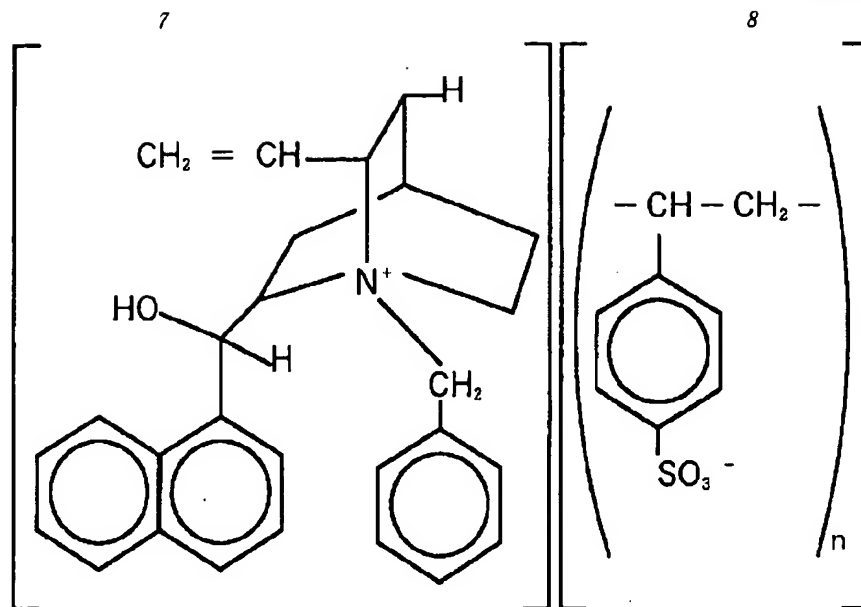
【化1】



【0020】環状4級アンモニウム陽イオンと高分子重合体陰イオンとのイオン会合体としては、たとえば、下記構造式に示す (8S, 9R) -ベンジルシンコニジウム陽イオン (以下、 $\text{BC}^+$ ) とポリスチレンスルホン酸陰イオン (以下、 $\text{PSS}^-$ ) とのイオン会合体 ( $\text{BC}^+ - \text{PSS}^-$ ) がある。

【0021】

【化2】



(8S,9R) - ベンジルシンコニジニウム      ポリスチレンスルホン酸  
陽イオン    陰イオン

$n$  (重合度) = 300~3000

【0022】このイオン会合体では、環状4級アンモニウムイオン ( $BC^+$ ) の対イオンとなるポリスチレンスルホン酸陰イオン ( $PSS^-$ ) が高分子であるため、立体排除効果が高められる。 $PSS^-$  の重合度は約300~約3000のものが好ましい。また  $BC^+$  と  $PSS^-$  との会合比は1、ないしは、若干  $BC^+$  が多めになる位が好ましい。このイオン会合体は高分子鎖が絡み合った状態にあり、その絡み合い構造の中に、前述の  $DSBODA^{2+} \cdot 2Cl^-$  が捉えられていれば、 $DSBODA^{2+} \cdot 2Cl^-$  の静電効果とイオン会合体による立体効果とが共に強力に発揮されることになる。特に本発明では、これらを2種のエポキシ樹脂で化学環境を整えた支持体中に埋め込むことになるので、親油・親水効果も最大限に利用でき、イオン選択性も優れたものとなる。

【0023】

【実施例1】

(1) 感応物質 (1, 14-ジステアリルビスクロ [2, 2] オクター 1, 14-ジアニモニウムクロライド:  $DSBODA^{2+} \cdot 2Cl^-$ ) の合成

1, 14-ジアザビスクロ [2, 2] オクタン (和光純薬工業製) 10gに、ジメチルホルムアミド20ml、次いでエチルアルコール200mlを注ぎ、加熱溶解した。この溶液に、1-ヨードオクタデカン (東京化成工業製) 25gを150mlのジメチルエーテルで溶解したものを、攪拌しながら滴下した。このとき液温が70℃を上回らないようにした。滴下混合終了後、約4時間還流した。冷却後、内容物 ( $DSBODA^{2+} \cdot 2I^-$ ) を濾別し、乾燥後、室温保存した。得られた粗成

$DSBODA^{2+} \cdot 2I^-$  の5gに、約500mlのエチルアルコールを加えて加温し、沸騰を始めた後に200mlの濃塩酸を注ぎ入れ攪拌した。しばらく放置後、液上に浮かび上がってきた粗成目的物 ( $DSBODA^{2+} \cdot 2Cl^-$ ) を採取し、エチルアルコールで再結晶後、乾燥し室温保存した。

【0024】(2) イオン会合体 ( $BC^+ - PSS^-$ ) の調製

2gの (8S, 9R) - (-) - ベンジルシンコニジニウムクロライド (アルドリッチ社製) に純水10mlを加えた後、5mlのエチルアルコールを加えて溶解した。このアルコール溶液上に、ポリスチレンスルホン酸ナトリウム (カネボウエスエスシー社製) 1gを50mlの純水で溶解したものを、パスツールピペットで静かに重層した。容器に蓋をして、上下に数回激しく振盪し、目的のイオン会合体を析出させた。析出した沈澱物を集め、ステンレス篩 (メッシュ115程度) を敷いたブフナーローで減圧・吸引しながら、純水でよく洗浄した。洗浄したイオン会合体をシャーレに移し、キムワイプ等で水気を拭き取った後、乾燥した。これを、めのうまたはセラミック乳鉢で25メッシュ程度まですり潰し、室温保存した。

【0025】(3) 応答膜の作製

10mgのイオン会合体 ( $BC^+ - PSS^-$ ) と2mgの感応物質 ( $DSBODA^{2+} \cdot 2Cl^-$ ) とを乳鉢でよくすり潰した。これにポリチオール系エポキシ樹脂の硬化剤50mgと、ポリアミド系エポキシ樹脂の硬化剤100mgとを加え、さらに練り混ぜた。この後、ポリチ

9

オール系エポキシ樹脂の主剤50mgと、ポリアミド系エポキシ樹脂の主剤100mgとを加え、素早くよく練り混ぜた。乳鉢の内容物をテフロンシールに挟んで、厚さ0.2mm程度の膜厚となるように押し潰した。このテフロンシールに挟まれたエポキシ樹脂をそのまま、予め80℃に加熱しておいたホットプレートに載せた。約5分後、硬化したエポキシ樹脂をテフロンからはがし、予めホットプレートに載せて加熱しておいたガラス板上に載せ、引き続いて加温した。約20分後、エポキシ樹脂膜をガラス板からはがし、室温下徐冷した。得られた電極膜（応答膜）を適当な大きさに切り、電極セル先端\*

10

\*に両面テープまたは2液型エポキシ系接着剤で貼り付けた。

【0026】

【比較例1～8】実施例との比較を行なうため、実施例1のエポキシ樹脂をポリチオール系エポキシ樹脂のみとしたもの又はポリアミド系エポキシ樹脂のみとしたもの、あるいは、感応物質を1種のみとしたもの等を実施例1の(3)と同様に作製した。各比較例における各組成物の重量比を下記表1に示す。

【0027】

【表1】

	エポキシ樹脂				感応物質	
	ポリアミド系 主剤	硬化剤	ポリチオール系 主剤	硬化剤	DSBODA <sup>2+</sup> ・2Cl <sup>-</sup>	BC <sup>+</sup> -PSS <sup>-</sup> イオン会合体
実施例1	100mg	100mg	50mg	50mg	2mg	10mg
比較例1	—	—	100	100	3	—
比較例2	100	100	—	—	3	—
比較例3	—	—	100	100	—	20
比較例4	100	100	—	—	—	20
比較例5	—	—	100	100	2	10
比較例6	100	100	—	—	2	10
比較例7	100	100	50	50	2	—
比較例8	100	100	50	50	—	10

【0028】

【比較例9】感応物質支持体としてポリ塩化ビニルを使用したものを作製した。ポリ塩化ビニル（重合度1020；半井化学工業製）200mgに、6mlのテトラヒドロフランを入れ溶解した後、特願平1-342943に従って合成したエチルトリドデシルアンモニウムクロライド130mgを加え、一晚攪拌を続けた。フラットシャーレに溶解液を移し、ホットプレート（30℃）上で一晚乾燥した。翌日で上がった応答膜を電極セルの形状にくりぬき、シクロヘキサノンを用いて電極セル先端に貼り付け室温で約半日乾燥した。

【0029】

【比較例10】比較例9に可塑剤を含有させた応答膜を作製した。すなわち、360mgのフタル酸n-ジオクチル（和光純薬製）を、比較例9の溶解液に加え、以下同様にして電極セルを作製した。

【0030】

【比較例11】特願平1-342943の方法に従って、1-テトラデカノール（重量比；80）とエチルトリドデシルアンモニウムクロライド（重量比；20）を応答剤とする電極セルを作製した（いわゆる無支持体型の応答膜）。

【0031】

【比較例12】コロジオン（ナカライテスク社製）6mlに、ベンジルジメチルステアリルアンモニウムクロライド100mgと1-ナフタレンエタノール100mgを加え、溶解後これをフラットシャーレに移して室温で乾燥した。べとつきがなくなったところで、ホットプレート（80℃）で一晚乾燥し、できた電極膜を適当な大きさに切り、電極セル先端に両面テープで貼り付けた。この応答膜は、いわゆる高分子液膜型の1種である。

【0032】

【実験例】実施例1、比較例1～12の電極を用いて、 $10^{-4}$ Mから $10^{-1}$ MまでのKCl水溶液を試料にして、比較電極との電位差を測定した。電極セルの構成を図1に示す。円筒状の電極ケース10の下端に実施例1の応答膜12が取り付けられ、その内部には $10^{-2}$ M KCl溶液14が満たされ、その中にAg/AgClからなる内部電極16が浸漬されている。この構成は、各比較例1～12でも、それぞれ応答膜が異なるのみで他は同様である。これら各電極を使用して各濃度のKCl溶液に一定濃度の妨害イオン（濃度[X]）を添加し、電位差のずれが18mV（2価イオンの場合は9mV）となる塩化物イオン濃度[Cl]を求め、各イオンに対する選択係数=10

11

g ( $[Cl]/[X]$ )を求めた。なお、それぞれの直線性は $10^{-4}M$ から $10^{-1}M$ のKCl濃度範囲で良好であり、応答性も満足のいく値(2~6秒)であった。

【0033】図2に示すように、実施例1と比較例1~8を比較すると、明らかに、2種類の応答物質とエポキシ樹脂混合支持体を用いた実施例1の方が、全体としてイオン選択性に優れていることがわかる。応答物質が同じものである場合(たとえば比較例1と2、比較例3と4、比較例5と6の各組)には、支持体がポリチオール系エポキシ樹脂よりもより親油性のポリアミド系エポキシ樹脂を用いた方が、親油性イオン( $Br^-$ 、 $NO_3^-$ )に対する選択性が低下する一方、親水性イオンに対する選択性が向上している。このことは、電極のイオン選択性に対し、感応(応答)物質がおかれる支持体による化学環境が影響を与えていることを示している。また、 $SO_4^{2-}$ 、 $H_2PO_4^-$ イオンに着目して見ると、比較例5と6に示されるように、より親油性の高いポリアミド系エポキシ樹脂支持体を用いた比較例6の方が、2種の応答物質混合の効果が大い。しかし、その混合効果も、実施例1のように、2種のエポキシ樹脂支持体を用いることにより最大となっている。

【0034】比較例9、10は、現在最も一般的に用いられている形式の応答膜を用いた電極であり、これと比較すると本実施例では、 $HCO_3^-$ 、 $CH_3COO^-$ イオンで選色がなく、 $SO_4^{2-}$ 、 $H_2PO_4^-$ イオンで選択性に優れる。特に親油性イオンである $Br^-$ 、 $NO_3^-$ イオンでの選択性は、これら従来の比較例9、10よりも格段に優れ、1桁(10倍)以上となるものもある。いわゆる無支持体型の応答膜を用いた比較例11は、電極の基本性能としては、実施例1よりも優れているが、その構成上機械的強度が乏しく、タンパク等の生体物質が付

12

着しすると、これを取り除くのが困難であり、その悪影響を除去できない。比較例12はコロジオンを用いた高分子液膜型の応答膜を用いた電極であり、親水性イオンに対する選択性には優れていたが、親油性イオンに対する選択性では、実施例1のほうが優っていた。

【0035】

【発明の効果】以上のように本発明は、塩化物イオン選択性感応物質を保持する支持体として親水性・親油性の異なる2種類のエポキシ樹脂、すなわちポリチオール系エポキシ樹脂とポリアミド系エポキシ樹脂とを組み合わせ使用したので、優れたイオン選択性、直線性、応答性の確保が可能となる。またエポキシ樹脂自体は機械的強度に優れ堅牢であるから、例えばタンパクなどが付着しても、容易に拭き取ること、次亜塩素酸で洗浄することができ、また血清中でもその影響を受けにくい。感応物質が流出することもないからその寿命も長いものとなる。また、感応物質として、1分子当たり複数の窒素原子を有する環状4級アンモニウム塩と、環状4級アンモニウム陽イオンと高分子重合体陰イオンとのイオン会合体、との混合物を使用することにより、より優れたイオン選択性を達成することができる。

【図面の簡単な説明】

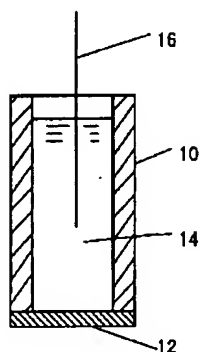
【図1】本発明の塩化物イオン選択性電極の一実施態様の構成を示す断面図である。

【図2】本発明の実施例と比較例における各種イオンに対する選択係数を示す図である。

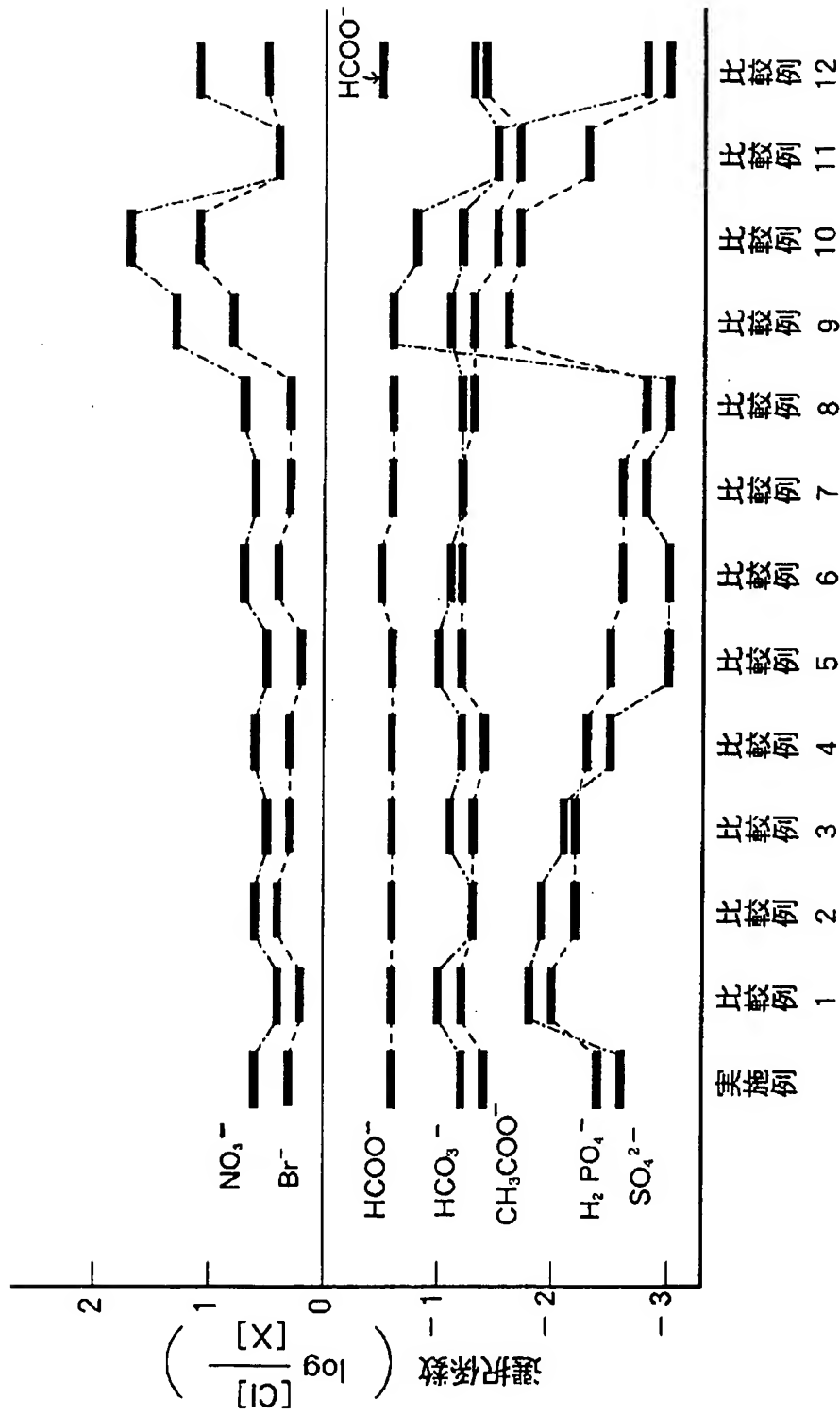
【符号の説明】

- 10 電極ケース
- 12 応答膜
- 14 内部液
- 16 内部電極

【図1】



【図2】





## 【手続補正書】

【提出日】平成3年10月22日

## 【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0007

【補正方法】変更

【補正内容】

【0007】 (f) (e) の感応物質の支持体をポリアミド系エポキシ樹脂と塩化ビニル樹脂の混合物に代えた応答膜（特公平2-40184）

感応物質としてはメチルトリドデシルアンモニウムクロライド等の $R_4NC1$ （4級アンモニウム塩のクロライド型）が、また溶媒（塩化ビニル樹脂の可塑剤）としてはフタル酸 $\alpha$ -ジオクチル等のフタル酸エステルが用いられる。エポキシ樹脂としてはビスフェノールタイプのもので、またエポキシ樹脂硬化剤としてはアミンタイプのもので用いられている。このタイプの応答膜は、(e) の応答膜の改良型であって、比較的堅牢であり、直線応答範囲も $10^{-1}MC1^{-} \sim 10^{-4}MC1^{-}$ と優れている。しかし(e) の応答膜より改良されたとはいえ、まだ応答速度が遅く、 $10^{-1}MC1^{-} \sim 10^{-5}MC1^{-}$ に変化させた時、応答に約15分もかかる。またヨウ化物イオンなどのハロゲンイオン及び硝酸イオン等によって妨害を受けやすい。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0008

【補正方法】変更

【補正内容】

【0008】 (g) 感応物質を、融点が室温以上でかつ分子内に水酸基を少なくとも1つ有する化合物に融かし込んだもの（いわゆる無支持体型の応答膜）（特願平1-342943、同2-245177）

感応物質としてはエチルトリドデシルアンモニウムクロライドや1-ヒドロキシエチルトリドデシルアンモニウムクロライド等の4級アンモニウム塩が、また感応物質の賦形材として1-テトラデカノールまたはコレステロールなどが用いられる。このタイプの応答膜は、直線応答性の範囲が $10^{-1}MC1^{-} \sim 10^{-4}MC1^{-}$ と優れ、また臭化物イオンや硝酸イオン等（いわゆる親油性妨害イオン）や重炭酸イオンや酢酸イオン等（親水性妨害イオン）の影響を受け難く、イオン選択性の点で優れている。しかし有機化合物そのものを賦形材としているため、機械的強度は小さい。また賦形材の骨格が親油性であるため、タンパクや脂質成分等の影響を受けやすいという欠点がある。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0014

【補正方法】変更

【補正内容】

【0014】 一般に生体試料液には、塩化物イオン( $Cl^{-}$ )よりも親油性大であるイオン( $ClO_4^{-}$ 、 $SCN^{-}$ 、 $I^{-}$ 、 $Br^{-}$ 、 $NO_3^{-}$ 等)よりも、親水性が大である $HCO_3^{-}$ 、 $HPO_4^{2-}$ イオン等の量が多いことから、これら親水性イオンに対する選択性が重要視されている。しかし、親油性イオン（特に $Br^{-}$ ）は薬物のカウンターイオンとして使用されることが多いので、薬物を投与されたまたは服用している患者の血清、血液中の塩化物イオン濃度測定では、これら親油性イオンに対する選択性（排除性）も要求される。結局これら親水性イオンと親油性イオンの双方の妨害を排除することが要求される。本発明は、イオン選択性を制御するため、支持体を含めた化学環境を制御することにより、これら親水性イオンと親油性イオンの双方の妨害を排除することを可能にしたものである。また親水性、親油性の異なる2つのエポキシ樹脂を用いるものであるから、感応物質の性質（親水性、親油性の程度）に応じて、その混合比を適宜代えることにより、好ましいイオン選択性を確保することができる。

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0015

【補正方法】変更

【補正内容】

【0015】 本発明における塩化物イオン選択性感応物質としては、従来より感応物質として広く用いられている4級アンモニウム塩のイオン交換体を使用することができる。4級アンモニウム塩のアルキル基が長鎖なほど親油性が大となり、親水性イオンを排除する。すなわち親水性妨害イオンに対するイオン選択性は高くなる。一方、アルキル基が短鎖になれば、親水性が大となるので親油性イオンに対するイオン性が高くなる。従って、本発明で使用される感応物質は、支持体に使用したポリチオール系及びポリアミド系エポキシ樹脂による化学環境に応じて適宜のものを選ぶ。また逆に、選んだ感応物質に応じて2種類のエポキシ樹脂の配合率を変えることもできる。 本発明ではより好ましい感応物質として、a) 1分子当たり複数の窒素原子を有する環状4級アンモニウム塩と、b) 環状4級アンモニウム陽イオンと高分子重合体陰イオンとのイオン会合体、との混合物を使用することができる。

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0017

【補正方法】変更

【補正内容】

【0017】 一方、このような電荷の多い感応物質は、塩化物イオンだけでなく、他の陰イオンも強く引き

つけることになるから、他の陰イオン（すなわち妨害イオン）を排除する必要がある。妨害イオンの排除は、前記したようにアンモニウム塩のアリキル鎖の長さを調整して、その親油性、親水性を調節することにより対処できる。また長鎖アルキル基を有するものであれば、その長鎖が立体障害がとなつて、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ のような大きな陰イオンの接近を妨げ、これら大きな妨害イオンに寄る電位応答は弱くなると思われる。本発明では、このような立体障害の観点から、環状4級アンモニウム陽イオンと高分子重合体陰イオンとのイオン会合体を併せて使用している。

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0023

【補正方法】変更

【補正内容】

【0023】

【実施例1】

(1) 感応物質 (1, 14-ジステアリルピシクロ [2, 2, 2] オクター-1, 14-ジアニモニウムクロライド:  $\text{DSBODA}^{2+} \cdot 2\text{Cl}^-$ ) の合成

1, 14-ジアザピシクロ [2, 2, 2] オクタン (和光純薬工業製) 10gに、ジメチルホルムアミド20ml、次いでエチルアルコール200mlを注ぎ、加熱溶解した。この溶液に、1-ヨードオクタデカン (東京化成工業製) 25gを150mlのジエチルエーテルで溶解したものを、攪拌しながら滴下した。このとき液温が70℃を上回らないようにした。滴下混合終了後、約4時間還流した。冷却後、内容物 ( $\text{DSBODA}^{2+} \cdot 2\text{I}^-$ ) を濾別し、乾燥後、室温保存した。得られた粗成  $\text{DSBODA}^{2+} \cdot 2\text{I}^-$  の5gに、約500mlのエチルアルコールを加えて加温し、沸騰を始めた後に200mlの濃塩酸を注ぎ入れ攪拌した。しばらく放置後、液上に浮かび上がってきた粗成目的物 ( $\text{DSBODA}^{2+} \cdot 2\text{Cl}^-$ ) を採取し、エチルアルコールで再結晶後、乾燥し室温保存した。

【手続補正8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0024

【補正方法】変更

【補正内容】

【0024】 (2) イオン会合体 ( $\text{BC}^+ - \text{PSS}^-$ ) の調製

2gの(8S, 9R) - (-) -ベンジルシンコニジウムクロライド (アルドリッチ社製) に純水10mlを加えた後、5mlのエチルアルコールを加えて溶解した。このアルコール溶液を、ポリスチレンスルホン酸ナトリウム (カネボウエスエスシー社製) 1gを50mlの純水で溶解したものの上に、パスツールピペットで静かに重層した。容器に蓋をして、上下に数回激しく振盪

し、目的のイオン会合体を析出させた。析出した沈澱物を集め、ステンレス篩 (メッシュ115程度) を敷いたブフナーローで減圧・吸引しながら、純水でよく洗浄した。洗浄したイオン会合体をシャーレに移し、キムワイプ等で水気を拭き取った後、乾燥した。これを、めのうまたはセラミック乳鉢で25メッシュ程度まですり潰し、室温保存した。

【手続補正9】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0029

【補正方法】変更

【補正内容】

【0029】

【比較例10】比較例9と対応させるために可塑剤を含むさせた応答膜を作製した。すなわち、360mgのフタル酸n-ジオクチル (和光純薬製) を、ポリ塩化ビニル200mg、エチルトリドデシルアンモニウムクロライド40mgが溶解している6mlのテトラヒドロフラン溶液に加え、以下同様にして電極セルを作製した。

【手続補正10】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0032

【補正方法】変更

【補正内容】

【0032】

【実験例】実施例1、比較例1~12の電極を用いて、 $10^{-4}\text{M}$ から $10^{-1}\text{M}$ までの $\text{KCl}$ 水溶液を試料にして、比較電極との電位差を測定した。電極セルの構成を図1に示す。円筒状の電極ケース10の下端に実施例1の応答膜12が取り付けられ、その内部には $10^{-2}\text{M}$ の $\text{KCl}$ 溶液14が満たされ、その中に $\text{Ag}/\text{AgCl}$ からなる内部電極16が浸漬されている。この構成は、各比較例1~12でも、それぞれ応答膜が異なるのみで他は同様である。これら各電極を使用して各濃度の $\text{KCl}$ 溶液に一定濃度の妨害イオン (濃度  $[\text{X}]$ ) を添加し、電位差のずれが18mV (2価イオンの場合は9mV) となる塩化物イオン濃度  $[\text{Cl}]$  を求め、各イオンに対する選択係数  $= \log ([\text{Cl}] / [\text{X}])$  を求めた (混合溶液法)。なお、それぞれの直線性は $10^{-4}\text{M}$ から $10^{-1}\text{M}$ の $\text{KCl}$ 濃度範囲で良好であり、応答性も満足のいく値 (2~6秒) であった。

【手続補正11】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0034

【補正方法】変更

【補正内容】

【0034】 比較例9、10は、現在最も一般的に用いられている形式の応答膜を用いた電極であり、これと比較すると本実施例では、 $\text{HCO}_3^-$ 、 $\text{CH}_3\text{COO}^-$ イオンで遜色がなく、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ イオン

で選択性に優れる。特に親油性イオンである $\text{Br}^-$ 、 $\text{NO}_3^-$ イオンでの選択性は、これら従来の比較例9、10よりも格段に優れ、1桁（10倍）以上となるものもある。いわゆる無支持体型の応答膜を用いた比較例11は、電極の基本性能としては、実施例1よりも優れているが、その構成上機械的強度が乏しく、タンパク等の生体物質が付着すると、これを取り除くのが困難であり、その悪影響を除去できない。比較例12はコロジオンを用いた高分子液膜型の応答膜を用いた電極であり、親水性イオンに対する選択性には優れていたが、親油性イオンに対する選択性では、実施例1のほうが優っていた。

【手続補正12】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】図2

【補正方法】変更

【補正内容】

【図2】本発明の実施例と比較例における各種イオンに対する選択係数（混合溶液法）を示す図である。

【手続補正13】

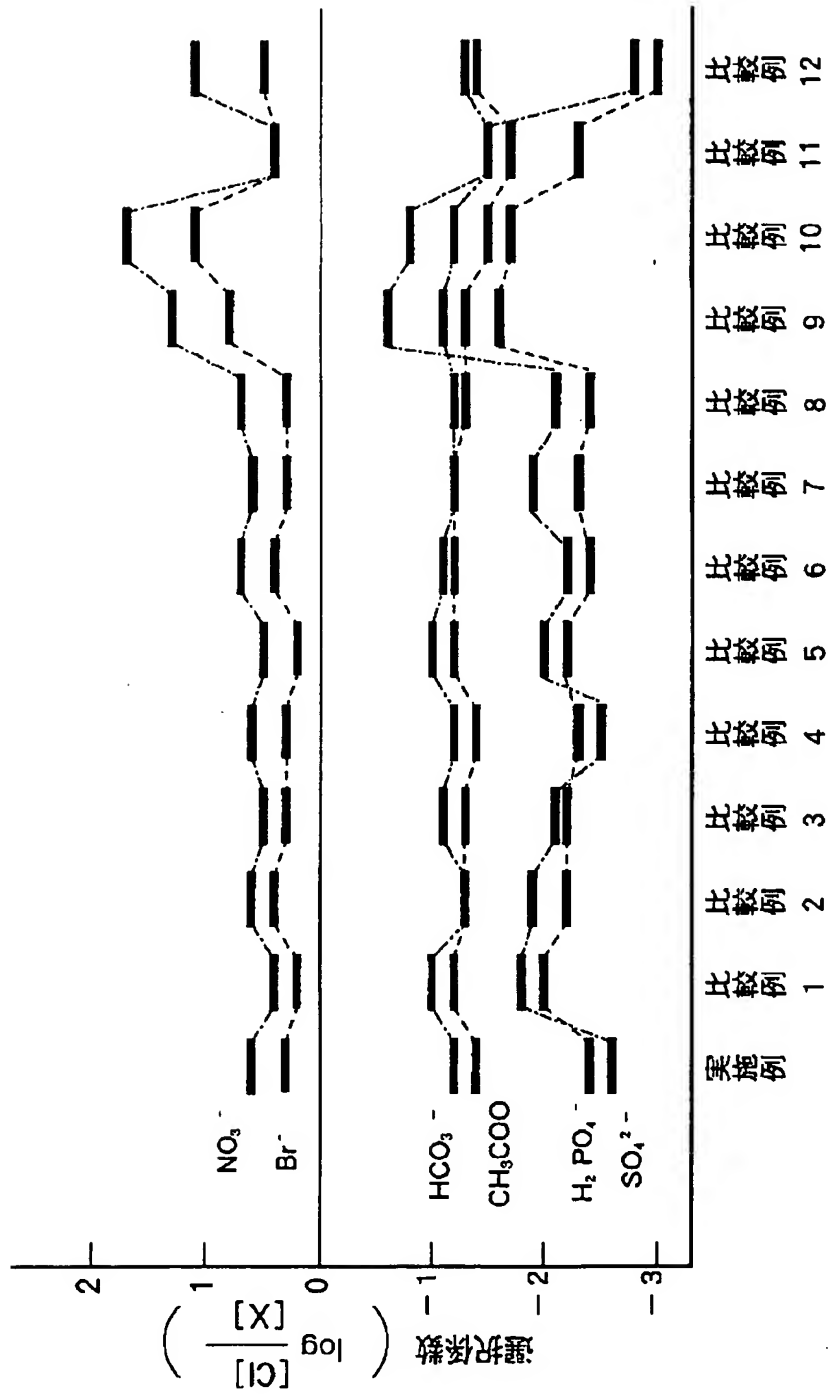
【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図2

【補正方法】変更

【補正内容】

【図2】



**【CLAIMS】**

**【Claim 1】** A sensing membrane for use in a chloride ion-selective electrode comprising a chloride ion-selective sensing material which is supported on a substrate consisting of a mixture of a polythiol epoxy resin and a polyamide epoxy resin.

**【Claim 2】** The sensing membrane for use in a chloride ion-selective electrode of claim 1 characterized in that said chloride ion-selective sensing material is a mixture of:

a) a cyclic quaternary ammonium salt having a plurality of nitrogen atoms per molecule, and

b) an ionic compound of a cyclic quaternary ammonium cation and a high-molecular polymer anion.

**【Claim 3】** The sensing membrane for use in a chloride ion-selective electrode of claim 2 characterized in that said cyclic quaternary ammonium salt is 1,14-distearyl bicyclo[2,2,2]octa-1,14-diammonium chloride.

**【Claim 4】** The sensing membrane for use in a chloride ion-selective electrode of claim 2 characterized in that said ionic compound is an ionic compound of (8S,9R)-benzyl cinchonidinium cation and polystyrene sulfonate anion.

**【DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION】**

**【0001】**

**【Field of the Invention】**

The present invention relates to sensing membranes for plastic membrane type chloride ion-selective electrodes comprising a chloride ion-selective sensing material supported on a substrate made from a polymer material.

【0002】

【Technical background】

The following sensing membranes for chloride ion-selective electrodes used for analyzing chloride ions ( $\text{Cl}^-$ ) in solution are known.

(a) Sensing membranes comprising a solid molded membrane based on silver chloride (solid-state membrane type)

Sensing membranes of this type are robust with mechanical strength and good linear response. However, the surfaces of the sensing membranes undergo irreversible chemical changes resulting in unstable potentials if other halogen ions such as bromine and iodine ions or other ions such as sulfur, cyanogen and thiocyanate ions coexist in sample solutions. Another disadvantage is that they are also adversely affected by proteins or the like contained in various biological samples so that the potentials in such samples are unstable.

【0003】

(b) Sensing membranes comprising a sensing material dissolved in a suitable organic solvent and supported on a porous substrate such as ceramics (so-called liquid membrane type)

They use quaternary ammonium salts such as methyl tricapryl ammonium ion as sensing materials and 1-decanol or the like as solvents. Unlike type (a), sensing membranes of this type avoid the use of silver chloride undergoing irreversible chemical changes by halogen ions or the like as a sensing material. The quaternary ammonium salts used as sensing materials are somewhat adversely affected by these interfering ions during potential measurement, but the original potential response performance is recovered if these interfering ions are removed. They are known to be more useful than the solid-state membrane type (a) because they are less liable to the influence of proteins or the like. However, sensing membranes of this type have a short life because organic layers containing sensing materials constantly flow out from the sensing membranes.

They can be repeatedly used by replenishing organic layers, but the operations of replacing organic layers are difficult and tend to cause troubles. They also have other disadvantages such as the linear response range of  $10^{-1}\text{M Cl}^-$  -  $10^{-4}\text{M Cl}^-$ , low sensitivity, low mechanical strength and vulnerability to vibration.

【0004】

(c) Sensing membranes comprising a sensing material dissolved in a suitable organic solvent and supported on a high-molecular polymer substrate such as vinyl chloride resins (so-called polymeric liquid membrane type)

They use quaternary ammonium salts such as tetracetyl ammonium chloride as sensing materials and 1-tetradecyl alcohol, o-nitrophenyl ether or the like as solvents (JPA SHO 64-23151). Sensing membranes of this type are an improved version of the liquid membrane type (b) in which organic layers containing sensing materials are supported on a polymer substrate in place of a porous substrate to reduce efflux of the sensing materials. Especially when esters such as n-dioctyl phthalate are added as plasticizers, almost no organic layers containing sensing materials flow out. However, sensing membranes of this type have a narrow linear response range similarly to the liquid membrane type (b). Another disadvantage is low selectivity for so-called hydrophilic interfering ions such as bicarbonate and acetate ions. Especially when n-dioctyl phthalate is used as a plasticizer, their selectivity for so-called lipophilic interfering ions such as bromide and nitrate ions is also low. Still another disadvantage is unstable potential due to the influence of proteins or the like during measurement of various biological samples.

【0005】

(d) Sensing membranes using a substrate made from an ionic compound of a sensing material such as a quaternary ammonium cation and a high-molecular polymer anion (cation > anion) wherein the alkyl chains contained in the sensing material such as a quaternary ammonium cation are oriented (so-called molecularly oriented membrane type) (JPA SHO 63-265154).

They use  $\text{R}_4\text{N}^+$  type quaternary ammonium salts wherein two R groups have longer alkyl chains than the other R groups such as dimethyl distearyl ammonium ion as

sensing materials, and polystyrene sulfonate ion as anionic high-molecular polymer. Sensing membranes of this type are less liable to the influence of proteins or the like (probably because of the hard surfaces of the sensing membranes) and have high linearity and response. However, they are poor in selectivity because they tend to be interfered by bicarbonate ions contained in many of biological samples. Another disadvantage is low mechanical strength.

【0006】

(e) Sensing membranes comprising a sensing material gelled with dibenzyl sorbitol and embedded and solidified in a polyamide epoxy resin (so-called polymer solid membrane type)

Sensing membranes of this type are characterized by high mechanical strength, simple handling and wide linear response range of  $1\text{M Cl}^-$  -  $10^{-5}\text{M Cl}^-$ . However, they have an extremely low response speed, requiring a response time of 60 minutes when the response range varies in the range of  $1\text{M Cl}^-$  -  $10^{-5}\text{M Cl}^-$ .

【0007】

(f) Sensing membranes wherein the substrate for the sensing material in (e) is replaced by a mixture of a polyamide epoxy resin and a vinyl chloride resin (JPB HEI 2-40184)

They use  $\text{R}_4\text{NCl}$  (chloride type of quaternary ammonium salts) such as tridodecyl methyl ammonium chloride as sensing materials, and phthalic acid esters such as n-dioctyl phthalate as solvents (plasticizers for vinyl chloride resins). Bisphenol type epoxy resins and amine type epoxy resin curing agents are used. Sensing membranes of this type are an improved version of sensing membranes (e) and relatively robust with good linear response range of  $10^{-1}\text{M Cl}^-$  -  $10^{-4}\text{M Cl}^-$ . However, they still have a low response speed, requiring a response time of about 15 minutes when the response range varies in the range of  $1\text{M Cl}^-$  -  $10^{-5}\text{M Cl}^-$  even though they are improved over sensing membranes (e). Moreover, they are liable to interference from halogen ions such as iodide ions and nitrate ions.

【0008】



(g) Sensing membranes comprising a sensing material blended into a compound having a melting point of room temperature or higher and having at least one hydroxyl group in its molecule (so-called unsupported type) (Japanese Patent Applications HEI 1-342943 and HEI 2-245177)

They use quaternary ammonium salts such as ethyl tridodecyl triammonium chloride and 1-hydroxyethyl tridodecyl ammonium chloride as sensing materials, and 1-tetradecanol or cholesterol or the like as excipients for the sensing materials. Sensing membranes of this type have an excellent linear response range of  $10^{-1}\text{M Cl}^-$  -  $10^{-4}\text{M Cl}^-$  and excellent ion selectivity because they are less liable to the influence of bromide and nitrate ions or the like (so-called lipophilic interfering ions) and bicarbonate and acetate ions or the like (hydrophilic interfering ions). However, their mechanical strength is low because the excipients used are nothing but organic compounds. Another disadvantage is that they are liable to the influence of proteins or lipid components or the like because of the lipophilicity of the skeletons of the excipients.

【0009】

As described above, conventional chloride ion-selective electrodes had advantages and disadvantages. That is, those focusing on linearity (measurable concentration range), response (sensitivity), ion selectivity or the like are insufficient in mechanical strength, while those using resins for their substrates to ensure mechanical strength were poor in sensitivity and ion selectivity.

【0010】

【Object of the invention】

The present invention was made in view of the situation above, and aims to provide sensing membranes for chloride ion-selective electrodes having high mechanical strength and high resistance to stain and deposition of biological materials such as proteins without sacrificing linearity, response and ion selectivity.

【0011】

【Summary of the invention】

Such object of the present invention was achieved by providing a sensing membrane for use in a chloride ion-selective electrode comprising a chloride ion-selective sensing material supported on a substrate made from a mixture of a polythiol epoxy resin and a polyamide epoxy resin. That is, the present invention focuses on the chemical environment provided by the substrate supporting chloride ion-selective sensing materials and proposes to use a combination substrate of a relatively hydrophilic polythiol epoxy resin and a relatively lipophilic polyamide epoxy resin. This makes it possible to control not only the hydrophilicity and lipophilicity of the sensing materials but also the hydrophilicity and lipophilicity of the substrate, thereby ensuring excellent ion selectivity, linearity and response even if the substrate is resinous. Epoxy resins are per se excellent in mechanical strength and robust so that even proteins or the like can be readily wiped off if they are deposited. They also have a long life because no sensing materials flow out. More excellent ion selectivity can be achieved by using a mixture of a) a cyclic quaternary ammonium salt having a plurality of nitrogen atoms per molecule, and b) an ionic compound of a cyclic quaternary ammonium cation and a high-molecular polymer anion as sensing material.

【0012】

#### 【Detailed Description of the Invention】

Epoxy resins used for substrates are mixtures of a polythiol epoxy resin containing a bisphenol type base and a thiol type curing agent and a polyamide epoxy resin containing a bisphenol type base and an amine type curing agent. These epoxy resins may be two-pack epoxy adhesives. As compared with vinyl chloride resins, polythiol epoxy resins have fairly higher hydrophilicity and polyamide epoxy resins have higher lipophilicity. The ion selectivity of sensing membranes for ion-selective electrodes depends on the sensing materials contained in them as a matter of course, but also the properties of other components in the sensing membranes of the electrodes (specifically, various solvents, glass fibers added to increase the strength, and substrate, etc.). One measure of the influences of such components is the level of hydrophilicity or lipophilicity of the material of interest. For example, lipophilic sensing materials (ion

exchangers) more strongly respond to anions on the left side of the Hoffmeister series shown below and more weakly respond to anions on the right side.

(Lipophilic)  $\text{ClO}_4^- > \text{SCN}^- > \text{I}^- > \text{NO}_3^- > \text{N}_3^- > \text{NO}_2^- > \text{Cl}^- > \text{HCO}_3^- > \text{CH}_3\text{COO}^- = \text{SO}_4^{2-} > \text{F}^- > \text{HPO}_4^{2-}$  (Hydrophilic)

【0013】

Thus, if such relatively lipophilic sensing materials are used, they respond more strongly to foreign ions that are lipophilic relative to chloride ions ( $\text{Cl}^-$ ), thereby disturbing measurements. However, there is little interference from hydrophilic ions. If such lipophilic sensing materials are supported on a lipophilic substrate, the original properties of the sensing materials will be enhanced in the sensing membranes for electrodes thus prepared or the sensing membranes will have comparable properties to those of the original sensing materials when the substrate has the same lipophilic level as the sensing materials. Conversely, if a hydrophilic substrate is used, the electrode tends to be less liable to interference from lipophilic ions and more liable to interference from hydrophilic ions according to the hydrophilicity level of the substrate.

【0014】

Generally, biological samples contain much more hydrophilic ions such as  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$  than lipophilic ions ( $\text{ClO}_4^-$ ,  $\text{SCN}^-$ ,  $\text{I}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ , etc.) relative to chloride ion ( $\text{Cl}^-$ ), which attaches importance to selectivity for these hydrophilic ions. However, selectivity (exclusiveness) for lipophilic ions (especially  $\text{Br}^-$ ) is also required for measuring the chloride ion concentration in the serum/blood of patients who have been or are being medicated because these lipophilic ions are often used as counterions in drugs. Therefore, it is necessary to exclude interference from both of these hydrophilic ions and lipophilic ions. The present invention made it possible to exclude interference from both of these hydrophilic ions and lipophilic ions by controlling chemical environments including the substrate to control ion selectivity. Moreover, preferred ion selectivity can be ensured by appropriately changing the mixing ratio between two epoxy resins having different hydrophilicities and lipophilicities depending on the properties of sensing materials (the levels of hydrophilicity and lipophilicity).

【0015】

Chloride ion-selective sensing materials used in the present invention can be ion exchangers of quaternary ammonium salts conventionally widely used as sensing materials. Quaternary ammonium salts having longer alkyl chains are more lipophilic and exclude hydrophilic ions. That is, they have higher ion selectivity for hydrophilic interfering ions. On the other hand, those having shorter alkyl chains are more hydrophilic and have higher ion selectivity for lipophilic ions. Therefore, sensing materials used in the present invention are appropriately selected depending on the chemical environment provided by the polythiol and polyamide epoxy resins used for the substrate. More preferred sensing materials used in the present invention are mixtures of a) a cyclic quaternary ammonium salt having a plurality of nitrogen atoms per molecule, and b) an ionic compound of a cyclic quaternary ammonium cation and a high-molecular polymer anion.

【0016】

In quaternary ammonium salts, negatively charged anions are attracted by positive charges on nitrogen atoms. Therefore, sensing materials having more charges per molecule can attract anions more strongly and have higher sensitivity (electrostatic effect). From this viewpoint, the present invention uses a cyclic quaternary ammonium salt having a plurality of nitrogen atoms per molecule as one of sensing materials.

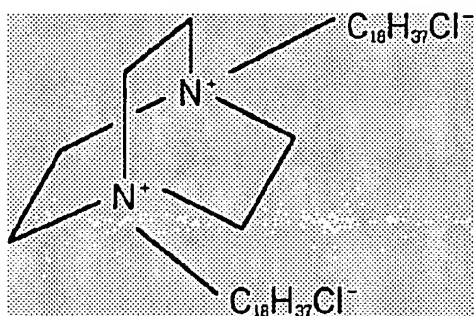
【0017】

On the other hand, it is necessary to exclude other anions (i.e., interfering ions) because such highly charged sensing materials strongly attract not only chloride ions but also other anions. Exclusion of interfering ions can be achieved by adjusting the length of the alkyl chain of the ammonium salt to control its lipophilicity and hydrophilicity as described above. Ammonium salts having longer alkyl chains seem to have low potential response to large interfering anions such as  $\text{SO}_4^{2-}$  because the longer chains sterically hinder the approach of these large ions. From this viewpoint of steric hindrance, the present invention also uses an ionic compound of a cyclic quaternary ammonium cation and a high-molecular polymer anion.

【0018】

An example of the cyclic quaternary ammonium salt having a plurality of nitrogen atoms per molecule is 1,14-distearyl bicyclo[2,2,2]octa-1,14-diammonium chloride (hereinafter abbreviated as DSBODA<sup>2+</sup> · 2Cl<sup>-</sup>), as shown by the structural formula below.

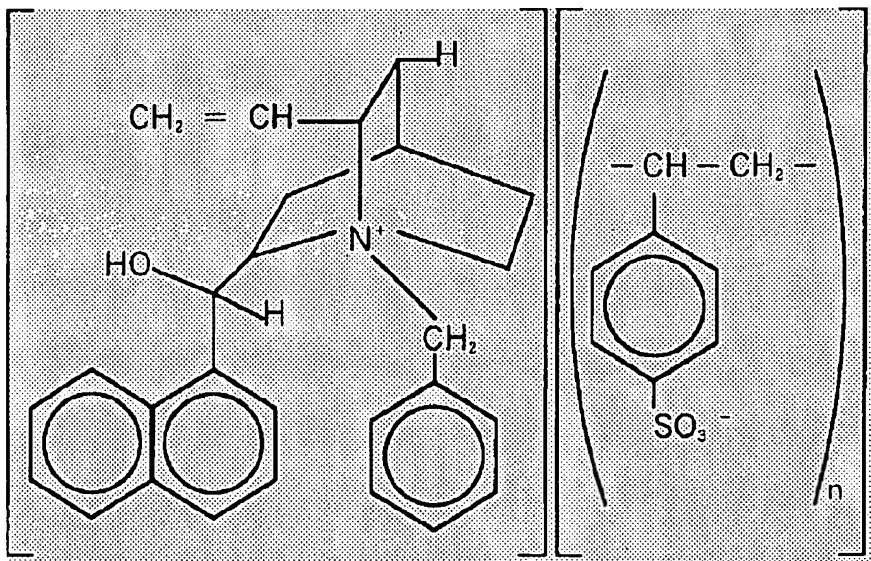
【0019】



【0020】

An example of the ionic compound of a cyclic quaternary ammonium cation and a high-molecular polymer anion is an ionic compound (BC<sup>+</sup> -PSS<sup>-</sup>) of a (8S,9R)-benzyl cinchonidinium cation (hereinafter abbreviated as BC<sup>+</sup>) and polystyrene sulfonate anion (hereinafter abbreviated as PSS<sup>-</sup>), as shown by the structural formula below.

【0021】



(8S,9R)-Benzyl cinchonidinium cation

Polystyrene sulfonate anion

n (polymerization degree) = 300-3000

【0022】

This ionic compound has a high steric exclusion effect because the polystyrene sulfonate anion ( $\text{PSS}^-$ ) serving as counterion for the cyclic quaternary ammonium ion ( $\text{BC}^+$ ) is polymeric. The polymerization degree of  $\text{PSS}^-$  is preferably about 300 to about 3000. The ratio between  $\text{BC}^+$  and  $\text{PSS}^-$  is preferably 1 to a slight excess of  $\text{BC}^+$ . This ionic compound has a network structure of polymer chains, and if the  $\text{DSBODA}^{2+} \cdot 2\text{Cl}^-$  described above is trapped in this network structure, both of the electrostatic effect of  $\text{DSBODA}^{2+} \cdot 2\text{Cl}^-$  and the steric effect of the ionic compound are strongly produced. Especially, lipophilic/hydrophilic effects can be optimized and high ion selectivity can be achieved according to the present invention by embedding these materials in a substrate providing a chemical environment controlled by two epoxy resins.

【0023】

【Example 1】

(1) Synthesis of a sensing material (1,14-distearyl bicyclo[2,2,2]octa-1,14-diammonium chloride:  $\text{DSBODA}^{2+} \cdot 2\text{Cl}^-$ )

Onto 10 g of 1,14-diazabicyclo[2,2,2]octane (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) was poured 20 ml of dimethyl formamide followed by 200 ml of ethyl alcohol and the mixture was heated until dissolution. To this solution was added dropwise 25 g of 1-iodooctadecane (Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd.) dissolved in 150 ml of dimethyl ether with stirring. During then, the liquid temperature was maintained not to exceed 70 °C. After completion of the dropwise addition and mixing, the mixture was refluxed for about 4 hours. After cooling, the content ( $\text{DSBODA}^{2+} \cdot 2\text{I}^-$ ) was filtered off and dried and then stored at room temperature. To 5 g of the resulting composition  $\text{DSBODA}^{2+} \cdot 2\text{I}^-$  was added about 500 ml of ethyl alcohol and the mixture was heated, and after the mixture began to boil, it was stirred with 200 ml of concentrated hydrochloric acid. After the mixture was allowed to stand for a while, the desired composition rising to the liquid

surface ( $\text{DSBODA}^{2+} \cdot 2\text{Cl}^-$ ) was collected and recrystallized from ethyl alcohol, then dried and stored at room temperature.

#### 【0024】

##### (2) Preparation of an ionic compound ( $\text{BC}^+ - \text{PSS}^-$ )

To 2 g of (8S,9R)-(-)-benzyl cinchonidinium chloride (Aldrich) was added 10 ml of pure water followed by 5 ml of ethyl alcohol to prepare a solution. Onto this alcoholic solution was gently overlaid 1 g of sodium polystyrene sulfonate (Kanebo SSC) dissolved in 50 ml of pure water using a Pasteur pipette. The container was capped and vigorously agitated up and down several times to precipitate out the desired ionic compound. The precipitates were collected and thoroughly washed with pure water under aspiration/reduced pressure using a Buchner funnel with a stainless steel sieve (about 115 meshes). The washed ionic compound was transferred to a Petri dish and wiped with a Kimwipe or the like to remove water and then dried. This was trituated to about 25 meshes in an agate or ceramic mortar and stored at room temperature.

#### 【0025】

##### (3) Preparation of a sensing membrane

In a mortar, 10 mg of the ionic compound ( $\text{BC}^+ - \text{PSS}^-$ ) and 2 mg of the sensing material ( $\text{DSBODA}^{2+} \cdot 2\text{Cl}^-$ ) were thoroughly trituated. This mixture was further kneaded with 50 mg of a polythiol epoxy resin curing agent and 100 mg of a polyamide epoxy resin curing agent. Then, the mixture was quickly and thoroughly kneaded with 50 mg of a polythiol epoxy resin base and 100 mg of a polyamide epoxy resin base. The content of the mortar was crushed into a film thickness of about 0.2 mm between the sealing surfaces of a Teflon seal. The epoxy resin between the sealing surfaces of the Teflon seal was directly set on a hot plate preheated at 80 °C. After about 5 minutes, the cured epoxy resin was stripped off the Teflon seal and placed on a glass plate preheated on a hot plate and continually heated. After about 20 minutes, the epoxy resin film was stripped off the glass plate and allowed to cool at room temperature. The resulting electrode membrane (sensing membrane) was cut into an appropriated size and adhered to an end of an electrode cell with a double-sided adhesive tape or a two-pack epoxy adhesive.

【0026】

【Comparative examples 1-8】

For comparison with the example, sensing membranes were prepared in the same manner as described in Example 1, (3) except that the epoxy resins of Example 1 were replaced by the polythiol epoxy resin alone or the polyamide epoxy resin alone or only one of the sensing materials was used. The weight ratios of the composition in each comparative example are shown in Table 1 below.



【0027】

【Table1】

	Epoxy resin				Sensing material	
	Polyamide		Polythiol		DSBODA <sup>2+</sup> -	BC <sup>+</sup> -PSS <sup>-</sup>
	Base	Curing agent	Base	Curing agent	2Cl	ionic compound
Example 1	100mg	100mg	50mg	50mg	2mg	10mg
Comparative example 1	-	-	100	100	3	-
Comparative example 2	100	100	-	-	3	-
Comparative example 3	-	-	100	100	-	20
Comparative example 4	100	100	-	-	-	20
Comparative example 5	-	-	100	100	2	10
Comparative example 6	100	100	-	-	2	10
Comparative example 7	100	100	50	50	2	-
Comparative example 8	100	100	50	50		10

【0028】

【Comparative example 9】

A sensing membrane was prepared using polyvinyl chloride as the substrate for sensing materials. Into 200 mg of polyvinyl chloride (polymerization degree 1020; Nakarai Chemical, Ltd.) was added and dissolved 6 ml of tetrahydrofuran followed by 130 mg of ethyl tridecyl ammonium chloride synthesized according to Japanese Patent

Application HEI 1-342943 and stirring was continued overnight. The solution was transferred to a flat Petri dish and dried overnight on a hot plate (30 °C). On the following day, the resulting sensing membrane was cut out into the form of an electrode cell and attached to an end of the electrode cell using cyclohexanone and dried at room temperature for about half a day.

【0029】

【Comparative example 10】

A sensing membrane containing a plasticizer in Comparative example 9 was prepared. That is, 360 mg of n-dioctyl phthalate (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) was added to the solution of Comparative example 9 to prepare an electrode cell in the same manner.

【0030】

【Comparative example 11】

According to the process of Japanese Patent Application HEI-01-342943, an electrode cell containing 1-tetradecanol (weight ratio: 80) and ethyl tridodecyl ammonium chloride (weight ratio: 20) as sensing materials was prepared (so-called unsupported sensing membrane).

【0031】

【Comparative example 12】

To 6 ml of Collodion (Nacalai Tesque, Inc.) were added 100 mg of benzyl dimethyl stearyl ammonium chloride and 100 mg of 1-naphthalene ethanol, and after dissolution, the solution was transferred to a flat Petri dish and dried at room temperature. When tackiness disappeared, the dish was dried overnight on a hot plate (80 °C), and the resulting electrode membrane was cut into an appropriate size and adhered to an end of an electrode cell with a double-sided adhesive tape. This sensing membrane is a so-called polymeric liquid membrane.

【0032】

### 【Experimental examples】

The electrodes of Example 1 and Comparative examples 1-12 were used to measure the potential difference from the reference electrode in samples of  $10^{-4}\text{M}$  to  $10^{-1}\text{M}$  aqueous KCl solutions. The structure of the electrode cell is shown in Figure 1. A cylindrical electrode case 10 having a sensing membrane 12 of Example 1 at a lower end is filled with a  $10^{-2}\text{M}$  KCl solution 14, in which an internal electrode 16 consisting of Ag/AgCl is immersed. Comparative examples 1-12 have similar structures except for their sensing membranes. These electrodes were used in KCl solutions of various concentrations containing interfering ions at a constant concentration (concentration  $[X]$ ) to measure the chloride ion concentration  $[Cl]$  at which the potential difference deviates by 18 mV (or 9 mV for divalent ions), thereby determining the selection coefficient  $= \log ([Cl]/[X])$  for each ion. The linearity was good in the KCl concentration range of  $10^{-4}\text{M}$  to  $10^{-1}\text{M}$  with satisfactory response (2-6 seconds).

### 【0033】

Figure 2 clearly shows that Example 1 using two sensing materials supported on an epoxy resin mixture has better ion selectivity as a whole as compared with Comparative examples 1-8. If the same sensing material is used (e.g., Comparative examples 1 vs. 2, Comparative examples 3 vs. 4, and Comparative examples 5 vs. 6), selectivity for lipophilic ions ( $\text{Br}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ) decreases but selectivity for hydrophilic ions improves when it is supported on a polyamide epoxy resin that is more lipophilic than a polythiol epoxy resin. This shows that the ion selectivity of electrodes is influenced by the chemical environment provided by the substrate on which the sensing (responsive) material is supported. For  $\text{SO}_4^{2-}$  and  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  ions, Comparative examples 5 and 6 show that the effect of mixing the two sensing materials is more pronounced in Comparative example 6 using the relatively lipophilic polyamide epoxy resin substrate. However, the mixing effect is the most pronounced when a substrate made from the two epoxy resins is used as in Example 1.

### 【0034】

In comparison with Comparative examples 9, 10 corresponding to electrodes using currently most common types of sensing membranes, the example the present

invention is comparable to them in selectivity for  $\text{HCO}_3^-$  and  $\text{CH}_3\text{COO}^-$  ions and superior to them in selectivity for  $\text{SO}_4^{2-}$  and  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  ions. Especially, selectivity for lipophilic ions such as  $\text{Br}^-$  and  $\text{NO}_3^-$  ions is remarkably higher than these conventional Comparative examples 9, 10, even by one order of magnitude (10-fold) or more. In Comparative example 11 using a so-called unsupported sensing membrane, the basic performance of the electrode is better than Example 1, but poor in mechanical strength for structural reasons so that biological materials such as proteins are difficult to remove and their adverse influences cannot be eliminated if they are deposited. Comparative example 12 is an electrode having a polymeric liquid membrane type sensing membrane using Collodion, which was good in selectivity for hydrophilic ions but inferior to Example 1 in selectivity for lipophilic ions.

【0035】

#### 【Advantages of the Invention】

As described above, the present invention makes it possible to ensure high ion selectivity, linearity and response because two epoxy resins having different hydrophilicities and lipophilicities, i.e. a polythiol epoxy resin and a polyamide epoxy resin are used in combination as a substrate for supporting a chloride ion-selective sensing material. Epoxy resins per se have excellent mechanical strength and robustness so that even proteins or the like can be readily wiped off and washed with hypochlorous acid if they are deposited, and they are also less liable to the influence of proteins in sera. They also have a long life because no sensing materials flow out. More excellent ion selectivity can be achieved by using a mixture of a cyclic quaternary ammonium salt having a plurality of nitrogen atoms per molecule, and an ionic compound of a cyclic quaternary ammonium cation and a high-molecular polymer anion as sensing material.

#### 【BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWING】

##### 【Figure

1 [http://www6.ipdl.ncipi.go.jp/Tokujitu/tjitemdrw.ipdl?N0000=231&N0500=1E\\_N/;?9978=;///&N0001=417&N0552=9&N0553=000005](http://www6.ipdl.ncipi.go.jp/Tokujitu/tjitemdrw.ipdl?N0000=231&N0500=1E_N/;?9978=;///&N0001=417&N0552=9&N0553=000005)】

A sectional view showing the structure of an embodiment of a chloride ion-selective electrode according to the present invention.

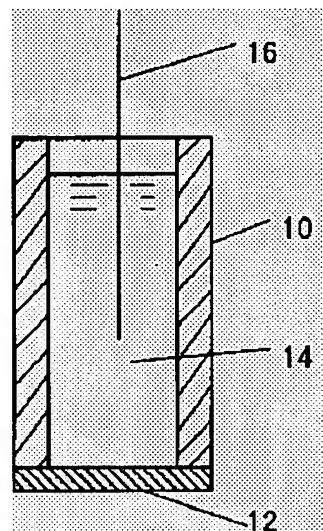
**【Figure 2】** A diagram showing selection coefficients for various ions in the example of the present invention and comparative examples.

**【References in the drawings】**

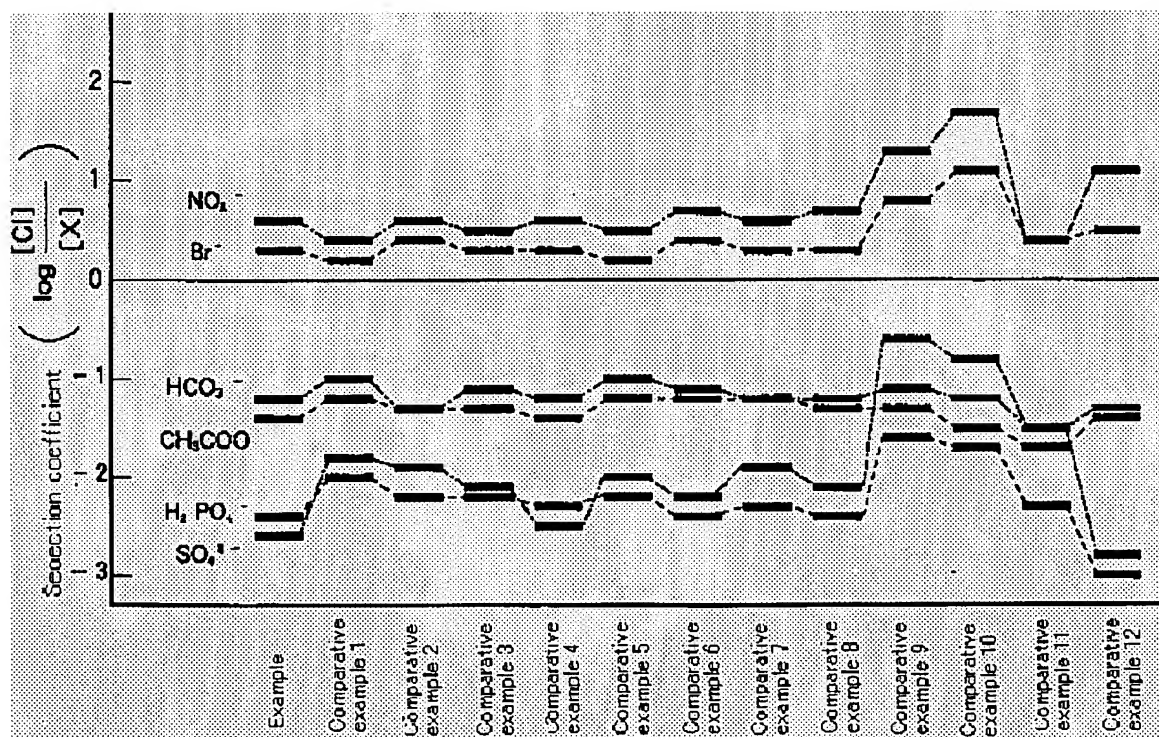
- 10 electrode case
- 12 sensing membrane
- 14 internal solution
- 16 internal electrode

【Figure

1 [http://www6.ipdl.ncipi.go.jp/Tokujitu/tjitemdrw.ipdl?N0000=231&N0500=1E\\_N/7:7978=://&N0001=417&N0552=9&N0553=000005](http://www6.ipdl.ncipi.go.jp/Tokujitu/tjitemdrw.ipdl?N0000=231&N0500=1E_N/7:7978=://&N0001=417&N0552=9&N0553=000005)】



【Figure 2】



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☐ **BLACK BORDERS**

☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**

☐ **FADED TEXT OR DRAWING**

☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**

☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**

☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**

☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**

☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**

☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**

☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**